

Fisiologia

PADRONIZAÇÃO DA REAÇÃO DE PCR EM TEMPO REAL PARA O GENE DO RECEPTOR DE PROGESTERONA ISOFORMA B

LAIZA FERNANDA SILVEIRA BROSE; GISELE BRANCHINI, LOLITA SCHNEIDER, ILMA SIMONI BRUM

INTRODUÇÃO: A progesterona exerce funções fundamentais na mama. Alterações no padrão de expressão de seus receptores (PRs) afetam tanto a proliferação quanto a diferenciação das células mamárias e podem influenciar a formação de tumores. A avaliação da expressão dos PRs em fibroadenomas e no tecido mamário normal pode auxiliar na elucidação dos mecanismos de formação dessas lesões. **OBJETIVO:** padronizar as condições das reações de PCR em tempo real para a isoforma B do PR.

MATERIAL E MÉTODOS: as amostras foram coletadas de pacientes submetidas à retirada cirúrgica de fibroadenomas no Serviço de Mastologia do HCPA, sendo imediatamente congeladas. O RNA total foi extraído pelo reagente TRIZOL e utilizado para a síntese de cDNA. Foram utilizadas 3 amostras para a padronização, sendo avaliadas as variáveis: ng de cDNA, concentração e tempo de anelamento dos primers. Os resultados de fluorescência do corante Syber Green I foram expressos em unidades arbitrárias (UA). **RESULTADOS:** para o fragmento correspondente ao mRNA do PRB foram avaliadas as quantidades de cDNA de 1; 0,4; 0,2; 0,1 e 0,02 ng, na presença de 5mM de primers, resultando em valores de fluorescência de 0,026; 0,014; 0,027; 0,022 e 0,016 UA, respectivamente. A seguir foram avaliadas as concentrações de primers de 5 e 3 mM, com 0,2 ng de cDNA, resultando em valores de fluorescência de 0,027 e 0,022 UA, respectivamente. Os tempos de anelamento avaliados foram 45 e 40 s, na presença de 0,2 ng de cDNA e 5 mM de primers, resultando em 0,022 e 0,02 UA. **CONCLUSÕES:** As melhores condições de PCR em tempo real para avaliar a expressão gênica do PRB são 0,2 ng de cDNA, 5 mM de primers e 40 s de anelamento. A partir destes resultados será comparada a expressão de PRB nas amostras de tecido mamário normal e fibroadenomas.